

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel
Vorsteher: Prof. Dr. med. et phil. G. Wolf-Heidegger

Über das Geschlechtschromatin bei der weißen Ratte

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät der Universität Basel

vorgelegt von

Ulrich Feiner

von Basel

1959



19

60

BASEL (Schweiz)

S. KARGER

NEW YORK

Von der Medizinischen Fakultät Basel
genehmigt auf Antrag von
Prof. Dr. G. Wolf-Heidegger

Tag der Promotion:
1. Juni 1959



Aus dem Anatomischen Institut der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. Dr. G. Wolf-Heidegger

ÜBER DAS GESCHLECHTSCHROMATIN BEI DER WEISSEN RATTE

Von ULRICH FEINER

Einleitung

Im Chromosomensatz der weiblichen und der männlichen Ratte weisen das X- und das Y-Chromosom einen deutlichen Größenunterschied auf. Diese in der Folge mehrfach bestätigte Feststellung wurde von *Painter* 1925 erstmals beschrieben. Nachdem *Barr und Bertram* [1949] im Chromatinbild von intermitotischen Ruhekernen der Nervenzellen bei der Katze einen Geschlechtsunterschied beobachten konnten, untersuchten *Moore und Barr* [1953] das Nervengewebe verschiedener Säugetiere. Dabei konnten sie in den chromatinreichen Nervenzellen der weiblichen Ratte kein Geschlechtschromatinkörperchen feststellen. Erst im Jahre 1956 beobachteten *De Castro* und Mitarbeiter in den Ameloblasten von Zähnen weiblicher Ratten ein Geschlechtschromatinkörperchen. In einer ganzen Reihe von Organen weiblicher Ratten haben *Wolf-Heidegger und Klinger* [1958] Geschlechtschromatin feststellen können. Im gleichen Jahr gelang es *Hinrichsen und Gothe*, Geschlechtschromatin in den Purkinjezellen des Kleinhirns, in der Leber und der Nebenniere weiblicher Ratten eindeutig nachzuweisen. *Wolf-Heidegger und Klinger* haben besonders darauf hingewiesen, daß beim weiblichen Rattenembryo in einigen Geweben Geschlechtschromatin nachweisbar ist, in denen es beim ausgewachsenen Tier nicht mehr dargestellt werden konnte. Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, durch Auszählung festzustellen, in welchen Organen der adulten Ratte und des Rattenembryo der Nachweis eines Geschlechtsunterschiedes im Chromatinbild der Zellkerne möglich ist.

Material und Methode

Von zwei tragenden Tieren (13. bzw. 16. Schwangerschaftstag) wurden in Narkose die Embryonen entnommen. Die 8 Embryonen (A bis H) des 1. Muttertieres wurden in Davidson fixiert, in Paraffin eingebettet und in Serien geschnitten. Jeder 3. Schnitt wurde auf einen besonderen Objektträger gebracht und mit Azan, die übrigen mit modifiziertem Thionin (nach *Klinger und Ludwig* [1957]) gefärbt. Die Amnien dieser Embryonen wurden in 95 %igem Alkohol fixiert. Von jedem Amnion

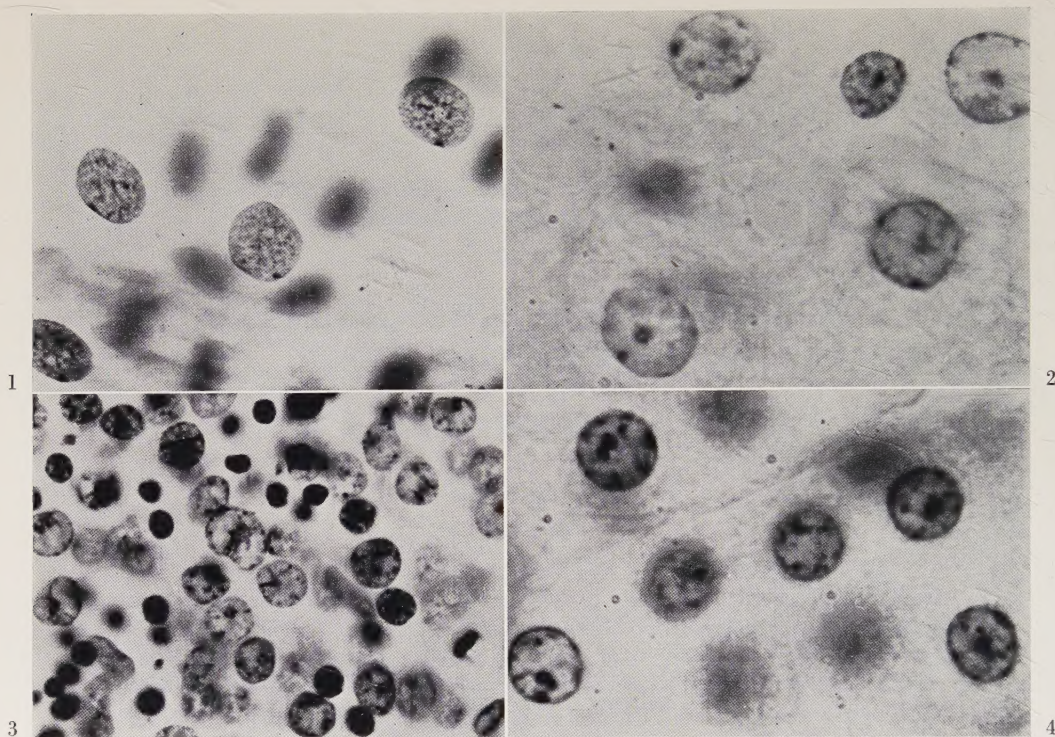


Abb. 1. Amnion eines ♀ Rattenembryo; in den vier Zellkernen ist das Geschlechtschromatinkörperchen deutlich sichtbar.

Abb. 2. Zellkerne aus der Leber der ausgewachsenen ♀ Ratte, modif. Thionin.

Abb. 3. Embryonale Leber ♀, Geschlechtschromatin nicht nachweisbar.

Abb. 4. Zellkerne der Niere, adulte, ♀ Ratte.

wurden zwei Häutchenpräparate angefertigt, wovon das eine mit Thionin, das andere nach Feulgen gefärbt wurde. Den Embryonen des zweiten Muttertieres (I bis R) wurden die Gonaden exstirpiert und in Serienschnitte zerlegt, die mit Thionin gefärbt wurden. Die Amnien wurden gleich behandelt wie beim ersten Fall. Von den adulten Tieren (zwei männliche und zwei weibliche Tiere) wurden 12 Organe geschnitten und von jedem Organ 4 Präparate angefertigt, wovon je zwei mit Thionin und zwei nach Feulgen gefärbt wurden. Die Auszählung erfolgte immer an den mit Thionin gefärbten Schnitten bzw. Präparaten. Die Feulgen-gefärbten Präparate dienten lediglich zur Kontrolle.

Befunde

Zuerst wurde das Geschlecht der Embryonen anhand der azan-gefärbten Schnitte aus dem mikroskopischen Bild der embryonalen Gonade festgestellt. Andererseits bestimmten wir an den mit Thionin

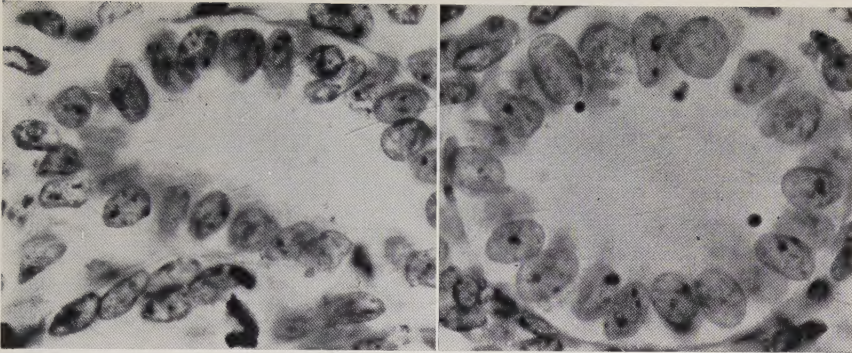


Abb. 5. Zellkerne der Niere, ♀ Rattenembryo.

Abb. 6. Wolffscher Gang, ♀ Rattenembryo.

gefärbten Amnien das chromosomale Geschlecht. Dabei zeigte sich vollständige Übereinstimmung, mit Ausnahme eines Falles, der in bezug auf das chromosomale Geschlecht sich als männlich erwies, im histologischen Aufbau der Gonade jedoch weder für die Diagnose männlich noch für weiblich ein typisches Bild zeigte. Herr Prof. *Roosen-Runge* (Seattle, Wash.), dem dieser Fall zur Begutachtung übergeben wurde, hatte die Freundlichkeit, diese Gonade genau zu untersuchen. Er teilte uns den folgenden Befund mit, den wir gekürzt wiedergeben:

«Die Keimstränge sind, ihrer Größe und dem Aussehen ihrer Zellen nach zu urteilen, männlich. Trotz dem männlichen Bild aber zeigte sich keine Tunica albuginea, die normalerweise beim Männchen schon vor dem 16. Tag klar sichtbar ist. Es zeigte sich ein dickes, mehrschichtiges Keimepithel, das viele Urgeschlechtszellen enthält. Im weiteren sollte man in diesem Stadium der Entwicklung viele interstitielle Zellen beim männlichen Geschlecht feststellen können. Diese sind aber gar nicht oder in verschwindend kleiner Zahl vorhanden.»

Zusammenfassend stellt Prof. *Roosen-Runge* fest, daß die anomale Struktur dieser Gonade in keinem Widerspruch zum Befund des männlichen Geschlechtschromatins stehe.

Die Zahlenwerte, die sich bei der Auszählung der Amnien ergeben haben, wurden in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Pro Embryo wurden 100 Zellen ausgezählt. Da das Kernbild verhältnismäßig klar ist, genügt eine Einteilung in die vier nachfolgenden Kategorien.

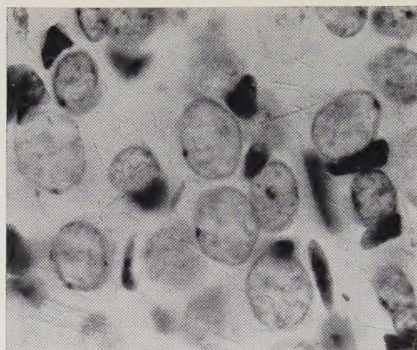


Abb. 7. Ganglion spinale, ♀ Rattenembryo.

1.  Das Geschlechtschromatinkörperchen liegt an der Kernmembran.
2.  Einzelner Chromatinkörper im Caryoplasma.
3.  Zwei oder mehr Chromatinkörper im Caryoplasma.
4.  Der Zellkern weist keine größeren Chromatinschollen auf.

Embryo					Total
A ♀	63	25	8	4	100
B ♀	16	11	33	40	100
C ♀	54	19	14	13	100
D ♂	1	6	4	89	100
E ♂	5	8	23	64	100
F ♀	50	28	11	11	100
G ♂	4	7	19	70	100
H ♀	58	26	13	3	100
I ♀	39	28	15	18	100
K ♀	45	22	18	15	100
L ♂	1	6	16	77	100
M ♂	1	7	9	83	100
N ♀	52	23	15	10	100
O ♀	38	11	4	47	100
P ♂	4	17	7	72	100
Q ♀	41	41	10	8	100
R ♀	48	22	13	17	100

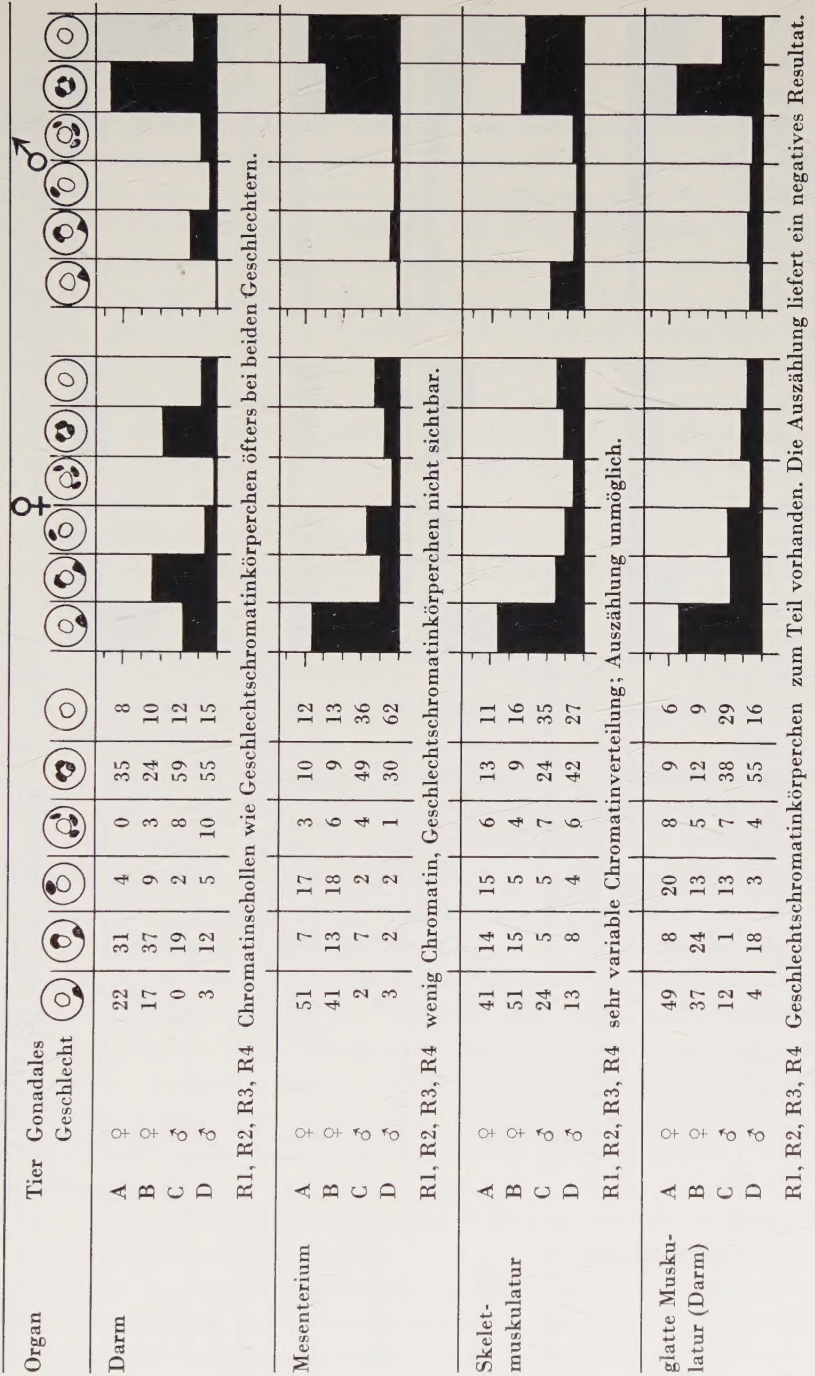
Anmerkung zur Tabelle: Die Embryonen B und O zeigten, wenn auch in einer geringeren Zahl der Fälle das für «weiblich» typische Bild, welches beim männlichen Geschlecht nicht zu finden ist, und sind somit, obwohl sie relativ kleine Werte besitzen, als weiblich zu bezeichnen. Die Frequenzverschiebung in den Kategorien könnte

eventuell durch technische Mängel an den beiden Präparaten erklärt werden. Bei einem Präparat konnte das Amnion nicht vom Chorion getrennt werden, was die Übersicht stark erschwerte. Das andere Präparat scheint beim Aufmontieren etwas ausgetrocknet zu sein. Der Vollständigkeit halber wurden jedoch auch diese beiden Präparate aufgeführt.

Während bei der Amnionauszählung noch ein verhältnismäßig klares Zellkernbild anzutreffen war, zeigten sich bei der Auszählung der Organpräparate einige Schwierigkeiten. Die Einordnung in vier Kategorien genügte hier nicht mehr, denn der Chromatinreichtum dieser Zellen ergibt mehrere Varianten. Als Grundlage zu dieser Auszählung diente die Einteilung, die *Hinrichsen und Gothe* in ihren Untersuchungen durchgeführt haben. Da es nicht Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist, möglichst genaue Zahlenwerte aufzustellen, sondern vielmehr einen Überblick zu geben, wo das Geschlechtschromatinkörperchen bei Rattenembryonen und adulten Tieren gefunden werden kann, wurde die Tabelle etwas vereinfacht. Trotzdem waren dazu sechs Kategorien nötig, und zwar:

- Typ 1.  Chromatinkörperchen an der Kernmembran ohne andere Chromatinschollen von ähnlichem Ausmaß.
- Typ 2.  Chromatinkörperchen an der Kernmembran mit deutlichem Chromatin am Nucleolus, wobei auch mehrere Chromatinschollen am Nucleolus zur gleichen Kategorie gezählt wurden.
- Typ 3.  Großer Chromatinkörper frei im Caryoplasma ohne besondere andere Chromatinschollen.
- Typ 4.  Mehrere Chromatinschollen im Caryoplasma.
- Typ 5.  Ein oder mehrere Chromatinkörper am Nucleolus ohne andere ähnlich große Chromatinschollen im Caryoplasma.
- Typ 6.  Kein auffallender Chromatinkörper im Kern.

In der nachfolgenden Tabelle sind die erhaltenen Zahlenwerte zusammengestellt. Bei jedem Organ wurden die Embryonen den ausgewachsenen Tieren gegenübergestellt. Pro Tier und Organ wurden 100 Zellen gezählt. Zur Veranschaulichung dienen die graphischen Darstellungen. Die Ordinatenwerte entsprechen dem Mittel aus beiden Zahlenwerten, die für die beiden Tiere gleichen Geschlechts in einer Kategorie gefunden wurden. Die Embryonen sind in der Tabelle mit A, B, C und D bezeichnet, wobei A und B weiblich, C und D männlich sind. Die adulten Tiere wurden mit R 1, R 2, R 3 und R 4 bezeichnet. R 1 und R 2 sind weiblich, R 3 und R 4 männlich.



Organ	Tier	Gonadales Geschlecht																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
-------	------	-------------------------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

R1, R2, R3, R4 Im Ovar der ausgewachsenen Ratte ist ein Geschlechtschromatinkörperchen nicht feststellbar, im Corpus luteum jedoch sehr deutlich (s. Ohno et al. [1960]). Die Zellkerne des Nebenhodens weisen kein Chromatin auf.

Die geschlechtsspezifische Differenzierung der Embryonen zeigt sich nicht nur an den Gonaden, sondern auch am Epithel des Müllerschen Ganges, welcher beim weiblichen Geschlecht gut ausgebildet ist und ein Lumen aufweist. Im männlichen Geschlecht jedoch kann er nur im kaudalen Teil deutlich erkannt werden. Kranielwärts wird er zu einem soliden Zellstrang und auf Höhe der Gonade ist er kaum mehr sichtbar. Die Wolffschen Gänge hingegen sind bei beiden Geschlechtern in gleicher Weise ausgebildet. Die Epithelien der beiden Gänge bestehen aus Zellen mit verhältnismäßig chromatinreichen Kernen. Eine Unterscheidung zwischen dem Kernbild beim männlichen und weiblichen Embryo bezüglich des Geschlechtschromatins ist gleichwohl noch durchaus möglich.

Im weiteren wurden die Milz, die Lunge und das Bindegewebe untersucht. An den Zellkernen der Milz und der Lunge ließ sich weder bei den Embryonen noch bei den ausgewachsenen Tieren ein geschlechtsspezifischer Unterschied feststellen. In den Bindegewebskernen der Embryonen hingegen konnte das Geschlechtschromatinkörperchen oft nachgewiesen werden; nur zeigten sich starke Unterschiede je nach Organzugehörigkeit des Bindegewebes. Beim Bindegewebe der ausgewachsenen Tiere war es wegen des Chromatinreichtums und der Vielgestaltigkeit der Zellen selten möglich, einen Unterschied nachzuweisen.

In den Purkinjezellen des Kleinhirns ist, wie *Hinrichsen und Gothe* 1958 beschrieben haben, der Geschlechtsdimorphismus im Chromatinbild deutlich. In meinen Präparaten habe ich entsprechende Befunde feststellen können. In den weiblichen Zellen befindet sich meistens ein großer Chromatinkörper, der am Nucleolus oder an der Kernmembran liegt. Die männlichen Zellkerne zeigen überraschenderweise einen ähnlichen Befund, nur ist der Chromatinkörper bedeutend kleiner. Da in den Purkinjezellen keine anderen heterochromatischen Anteile gefunden werden, liegt die Vermutung nahe, daß hier auch beim männlichen Geschlecht geschlechtsspezifische Chromatinkörperchen nachweisbar sind. In unserem Institut soll diese Frage auf histophotometrischem Wege noch genauer untersucht werden.

An den Purkinjezellen konnte noch ein weiterer bemerkenswerter Befund erhoben werden. Das Geschlechtschromatinkörperchen war in einigen benachbarten Windungen vorwiegend am Nucleolus gelegen, in anderen – gleichfalls benachbarten – Windungen hingegen an der Kernmembran. Bei der quantitativen Auswertung

fand sich an fünf aufeinanderfolgenden Windungen in 78% der Zellen das Geschlechtschromatinkörperchen in Nachbarschaft des Nucleolus, an den vier folgenden Windungen aber zu 65% an der Kernmembran. Möglicherweise beruht dieser Unterschied auf verschiedenen Stoffwechselvorgängen in den betreffenden Kleinhirnabschnitten. Ähnliches haben schon *Barr und Bertram* gezeigt, indem sie nachweisen konnten, daß das Geschlechtschromatin in Nervenzellen weiblicher Katzen bei gesteigerter Nucleoproteinsynthese vom Nucleolus gegen die Kernmembran zu wandert.

Zusammenfassung

Der Embryo der weißen Ratte zeigte im Amnion, in der Niere, dem Magen und Darm, den Spinalganglien, der glatten –, der Skelet- und der Herzmuskulatur, in der Gonade, dem Wolffschen und Müllerschen Gang und teilweise am Bindegewebe einen deutlichen Geschlechtsunterschied, während in der Leber, Lunge, Milz, dem Rückenmark und der Epidermis kein eindeutiger Nachweis möglich war.

Die ausgewachsenen Tiere dagegen zeigten einen Geschlechtsunterschied nur in der Leber und Niere, den Purkinjezellen des Kleinhirns, der Genitalhaut und dem Corpus luteum, während in der Milz, Lunge, Muskulatur, dem Magen-Darmkanal und dem Nervengewebe – außer den Purkinjezellen – ein Unterschied nicht festgestellt werden konnte.

Bei der weißen Ratte ist der Nachweis des Geschlechtschromatinkörperchens daher in den embryonalen Organen häufiger möglich als in den Organen des ausgewachsenen Tieres.

Summary

In the embryo of the white rat pronounced sex differences were observed in the amnion, kidney, stomach, intestine, spinal ganglion, smooth muscle, skeletal and heart muscle, gonads, Wolffian and Mullerian ducts and to a lesser degree in the connective tissues, whereas in the liver, lungs, spleen, spinal chord and epidermis no clear differentiation was possible. The adult rats, on the other hand, showed sex differences only in the liver, kidneys, the Purkinje cells of the cerebellum, the skin of the genitals and the corpus luteum.

Whereas in the spleen, lungs, musculature, stomach and intestines and nerve tissue—aside from the Purkinje cells—no differences could be established. Therefore, it is more frequently possible to demonstrate the presence of the sex chromatin bodies in the embryonal organs than in the organs of the adult animal.

Résumé

Etude de la chromatine sexuelle chez l'embryon de rat. Une différence sexuelle nette est mise en évidence au niveau des organes suivants: membrane amniotique, rein, estomac, intestin, ganglions spinaux, musculature lisse et striée, myocarde, gonades, canaux de Wolff et de Müller. Une différence partielle se trouve

dans le tissu conjonctif. La chromatine sexuelle n'a pas été mise en évidence dans le foie, le poumon, la rate, la moelle épinière et l'épiderme.

Les rats adultes ne présentent une différence sexuelle qu'au niveau des tissus suivants: foie, rein, cellules de Purkinje du cervelet, peau génitale et corps jaune, tandis que la rate, le poumon, la musculature, le tractus gastrointestinal et le système nerveux (à l'exception des cellules de Purkinje) ne montrent aucune différence.

Le corpuscule de chromatine sexuelle se laisse donc déceler plus souvent dans les organes de l'embryon du rat blanc que dans ceux de l'adulte.

LITERATUR

- Barr, M.L. and Bertram, E.G.*: A morphological distinction between neurons of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature, Lond.* 163: 676-677 (1949).
- de Castro, N.M.; Sasso, W.S. and Goes, M.R.*: Sex determination in rats (*rattus norvegicus* var. *albinus*) through the ameloblasts of the dental germ. *Nature, Lond.* 178: 1059-1060 (1956).
- Hinrichsen, K. und Gothe, H.-D.*: Morphologische und statistische Untersuchungen an Zellkernen von Ratten und Mäusen zur Frage einer cytologischen Geschlechtsdiagnostik. *Z. Zellforsch.* 48: 429-449 (1958).
- Klinger, H.P. and Ludwig, K.S.*: A universal stain for the sex chromatin body. *Stain Technol.* 32: 235-244 (1957).
- Moore, K.L. and Barr, M.L.*: Morphology of the nerve cell nucleus in mammals, with special reference to the sex chromatin. *J. comp. Neurol.* 98: 213-232 (1953).
- Ohno, S.; Kaplan, W.D. and Kinosita, R.*: On isopycnotic behavior of the XX-bivalent in oocytes of *Rattus norvegicus*. *Exp. Cell Res.* 19: 673-639 (1960).
- Painter, T.S.*: A comparative study of the chromosomes of mammals. *Amer. Nat.* 59: 385-409 (1925).
- Wolf-Heidegger, G. und Klinger, H.P.*: Zur Frage der Darstellung des Geschlechtschromatins bei Mollusken, Amphibien und Nagern. *Verh. anat. Ges., 55. Vers. Frankfurt/Main 1958, Anat. Anz.* 105: Erg. H. 17-20 (1958).

Eingegangen 15. Juli 1959

Adresse des Autors: Dr. med. dent. U. Feiner, Anatomisches Institut der Universität, Pestalozzistraße 20, Basel (Schweiz)

